

Dispersive Activity and Physical Properties of Exopolysaccharide (Cystan) produced by *Cystobacter* sp. MSL-9

이강모¹, 김세경¹, 이문원², 최선영², 이운택², 윤현식¹
인하대학교 생물공학과¹, (주)온바이오²
전화 (032) 860-8751, FAX (032) 872-4046

ABSTRACT

The dispersing activity and physical properties of exopolysaccharide (Cystan) produced by *Cystobacter* sp. MSL-9 was studied. Dispersing activity of Cystan was measured by using bentonite, calcium carbonate, and kaolin. Rheological properties of Cystan were investigated by using a rheometer MCR300. It was found that dispersing activity of Cystan was maintained under various pH and temperature conditions. A particle size analyzer BI-9000AT was used for the particle size measurement of Cystan in aqueous solution. The high dispersing activity and stability under various pH and temperature conditions showed the feasibility of Cystan as a industrial biodispersant.

1. 서 론

기존에 사용되는 다당류는 10개 이상의 단당 또는 유도단당이 glucoside결합에 의하여 형성된 탄수화물계 고분자이며, 자연계에 풍부하게 존재하며 유용하게 사용되어 왔다. 이런 다당류는 분자량, 구성당의 종류, 결합순서, 결합양식, 결합위치 및 branch의 형태에 따라 다양하게 존재하며 겔 형성능, 유화안정능, 표면장력 조절능, 필름형성능 등의 광범위한 기능적 특성을 이용하여 주요 산업소재로 사용되어 왔다¹⁾. 미생물로부터 생산된 고분자 물질의 응용의 연구는 1942년 Glicksman²⁾이 의료용으로 사용할 목적으로 *Leuconostoc* sp.로부터 Dextran의 생산에 대한 연구를 수행한 이래 *Alcaligenes faecalis* var *myxogens* 및 *Agrobacterium radiobacter*가 생산하는 curdlan들은 식품 등의 gelling agent로 사용되고 있다.³⁾ *Xanthomonas campestris*가 분비하는 xanthan이나 alginate는 식품 안정제로 이용되고 있다. 미생물이 생산하는 고분자 물질 중에서 이온으로 하전된 고분자 다당류는 그 활성이 탁월하여 공업 및 환경적으로 매우 다양하게 그 용도가 시험되고 있다. 세균, 곰팡이 및 조류 등에서 생산되는 고분자 다당류는 중금속 회수, 응집제, 및 분산제 등으로 사용가능성이 제기되고 있으나 환경

친화적인 바이오 제품으로 출시된 제품은 아직까지 보고되어 있지 않다. 본 연구에서는 *Cystobacter* sp.가 생산하는 신규 다당물질의 분산활성과 안정성 및 바이오 분산제의 물리적 특성을 연구하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 사용 균주 및 배양 조건

점토광물에 대해 강한 분산 활성을 갖는 고분자 분산제, Cystan을 생산하는 균주인 *Cystobacter* sp. MSL-9(KCTC 8958P)을 사용하였다. 이 균주는 Gram 음성이며, 호기성 균주이고, catalase에 대해서는 양성, oxidase에 대해서는 음성이다. 그리고 esculin, starch, casein, gelatin 및 Tween 80등은 잘 가수분해하나 cellulose 분해능은 없으며, urease는 생성되지 않는다. 고체배지에서는 *Cystobacter* sp. MSL-9가 고체 배지 표면 위를 미끄러지듯 움직이는 특징을 보이며 액체 배양 중에는 끝이 차츰 가늘어지는 gram 음성 간균 형태를 보인다. 또한 배양액은 배양이 진행 될수록 점성을 가진 분홍 빛의 색을 띄게 된다. 배지 조성은 galactose 1 g/L, sucrose 1 g/L, soluble starch 5 g/L, tryptone 2.5 g/L, K₂HPO₄ 0.25 g/L, MgSO₄ 0.5 g/L이었으며, 배양은 250 ml 플라스크에 100 ml의 배지를 넣고 배양온도 27°C, 교반속도 150 rpm 조건의 진탕 배양기에서 4일 동안 진행하였으며, 접종량은 3%(v/v)로 하였다. 모든 배지의 멸균 조건은 멸균기에서 121°C, 15psig 상태로 15분간 실시하였으며, 멸균 전 배지의 pH를 7.0으로 조절하였다.

2.2 Cystan의 점토광물에 대한 분산활성 실험

Cystobacter sp.를 배양한 배양액을 10,000rpm 에서 30분 원심분리를 2회 실시한 후 상등액을 회수하여, 점토광물 중 bentonite와 kaolin, CaCO₃에 대한 분산활성을 조사하였다. 상기 실험방법은 suspension에서 점토광물이 물에서 서서히 침강하는 원리를 이용한 것으로 효율이 좋은 분산제가 존재하면 점토광물은 더 이상 아래로 가라앉지 않고 물에 퍼져 있게 된다^{4,5}). 시험관에 Cystan solution 2ml, 증류수 2ml와 1g/l의 농도로 제조한 점토광물을 4 ml씩 주입한 후 혼합하였다. Control 시험관에는 Cystan 시료 2 ml 대신 증류수 2 ml을 주입하였다. 정치한 후, 시간별로 시료를 채취하여 UV-spectrophotometer를 이용하여 550 nm에서 탁도를 측정하였다. 또한 점토광물의 pH를 3~11범위로 조절하여 다양한 pH범위에서의 점토광물에 대한 분산활성을 측정하였다.

2.3 Cystan의 Rheological Test

점도(viscosity)는 유체의 내부 저항으로 정의되는데, 평행한 두 평판 사이에 유체가 채워져 있을 때 한쪽 평판을 이동시킨다면, 유체의 종류에 따라 평판을 움직이는데 필요한 힘의 크기가 달라지게 된다. 즉, 점성이 큰 유체일수록 더 큰 힘을 필요로 하게

되며⁶⁾, 이러한 원리를 이용하여 전단속도(shear rate)와 전단응력(shear stress)으로 점도를 측정하였다. 점도는 rheometer로 측정하였으며, pH, 온도 및 Cystan의 농도에 따른 점도 변화를 측정하였으며 xanthan을 동일한 농도로 제조하여 측정하여 비교하였다.

2.4 Particle Size Analysis

Cystan의 수용액상에서의 particle size 측정을 위하여 particle size analyzer를 이용하였다. Static light scattering은 산란각도에 따른 산란된 빛의 강도를 고분자 물질의 농도, 온도 등의 함수도 측정하여 고분자 물질의 분자량, 크기 및 모양과 열역학적 성질을 측정하는데 사용되고 있다. Cystan 2 g/l로 제조하여 0.45 μm cellulose acetate filter로 거른 후 sample cell에 10 ml을 담아 25°C에서 측정하였다. 측정은 5×10^5 Kcounts/sec로 실행하였으며, 10회 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 Cystan의 점토광물에 대한 분산활성 실험

Cystan의 점토광물에 대한 분산활성도를 측정하였다. Cystan sample을 주입하지 않았을 때를 control로 하여 Cystan의 분산능을 비교하여 보았다. 점토광물은 시간이 지날수록 점점 침강되는 성질을 보이거나 Cystan을 주입한 sample은 침강속도가 완연히 느려져 분산제로서의 성능이 우수함을 볼 수 있었다 (Fig. 1 and Fig. 2). Cystan 용액의 pH를 조절한 후 탁도를 측정하였다. pH 3 및 pH 11에서는 점토광물에 대한 낮은 분산활성이 관찰되었으며, pH 5~ pH 9 범위에서는 고르게 분산활성을 유지하는 것으로 밝혀졌다.

3.2 Cystan의 Rheological Test

Shear rate와 shear stress로 viscosity를 농도, pH, 온도별로 각각 측정한 결과 농도별 측정에서는 농도와 점도가 비례하는 것으로 나타났고, xanthan과의 동일한 농도에서의 측정결과, 다소 점도가 감소하는 것으로 확인되었다. 여러 pH와 온도에서의 점도 측정결과 점도의 변화가 없었다(Fig. 3).

3.3 Particle Size Analysis

Cystan의 수용액상에서의 particle size 측정하기 위해 Particle size analyzers를 사용하였다. Effective diameter는 평균 73.2 nm로 측정되었으며, 수용액상에서 particle size가 균일하게 나타나지는 않았다.

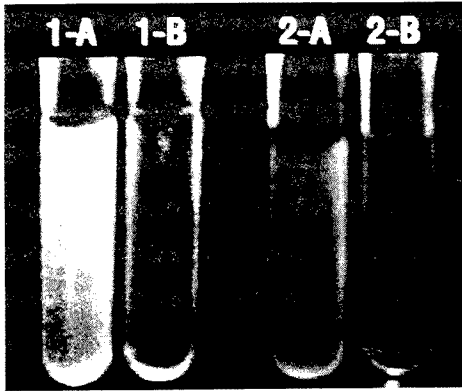


Figure 1. Dispensing effect of Cystan. (1-A: bentonite + Cystan, 1-B: bentonite + control, 2-A: kaolin + Cystan, 2-B: kaolin +control)

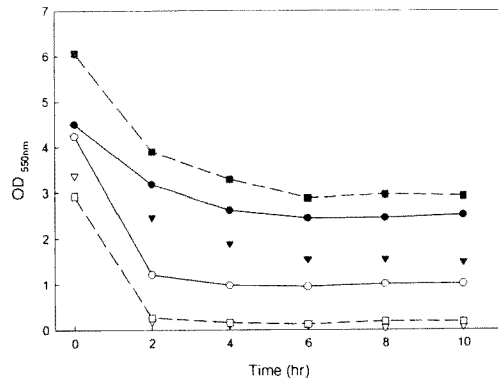


Figure 2. Dispensing activity of Cystan. Control; bentonite (-○-), kaolin (-□-), CaCO₃ (-▽-), Cystan; bentonite (-●-), kaolin (-■-), CaCO₃ (-▼-)

4. 요약

Cystan의 분산활성은 점토광물에 대한 침강속도가 완전히 느려짐을 확인하여 분산제로서의 성능이 우수함을 볼 수 있었으며, 넓은 범위의 중성 pH에서는 고르게 분산활성을 유지하는 것으로 밝혀졌다. 이는 rheological test에서도 알 수 있었는데, 여러 pH와 온도에서의 Cystan 용액의 점도측정결과 넓은 영역에서 pH 및 온도 변화에 따른 큰 차이가 없었다. *Cystobacter* sp. MSL-9에 의해 생산되는 Cystan은 분산활성과 안정성이 높으며 기존 화학분산제보다 환경친화적이어서 그 산업적 가치가 클 것으로 기대된다.

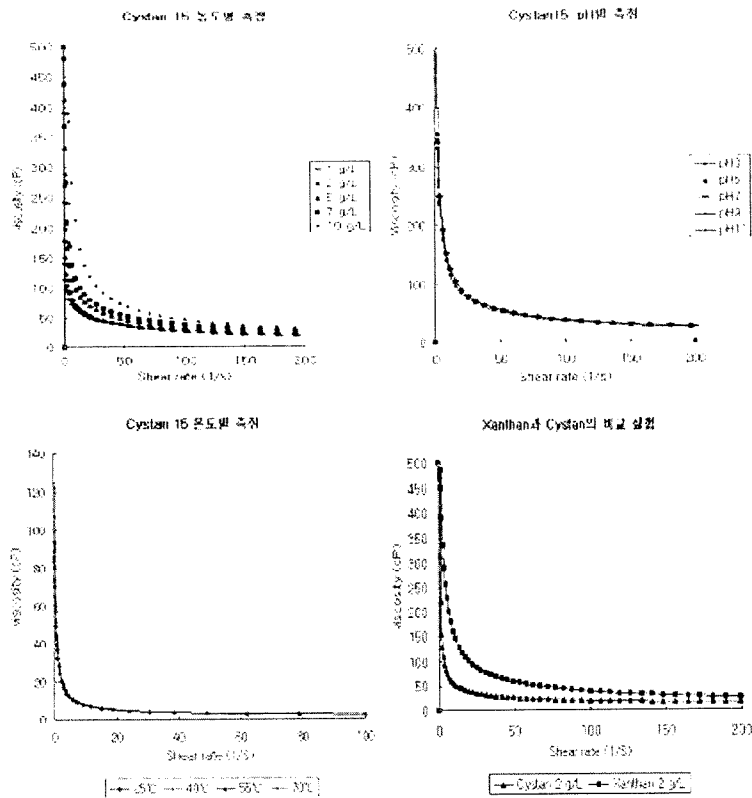


Figure 3. Rheological test results of Cystan.

감사의 글

본 연구는 산업자원부에서 시행한 산업기반 기술개발 사업의 기술개발과제(관리번호 00012144)의 지원으로 수행된 연구결과이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- [1] Sanderson, G. R. (1981), *Food Technol.* **35**, 50
- [2] Glicksman, M. (1982), *Food Hydrocoll.* **1**, 47
- [3] Pszczola, D. E. (1997), *Food Technol.* **51**, 4
- [4] Rosenberg, E, C. Rubinovitz, A. Gottlieb, S. Rosenhak, and E. Z. Ron (1998), *Appl. Environ. Microbiol.* **54**, 317
- [5] Shimofuruya, H., A. Koide, K. Shirota, T. Tsuji, M. Nakamura, and J. Suzuki (1996) *Biosci. Biotech. Biochem.* **60**(3), 498
- [6] Moreno, J, M. A. Vargas, J. M. Madiedo, J. Munoz, J. Rivas, and M. G. Guerrero (2000), *Biotechnol. Bioeng.* **67**, 283